

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**Determinación de la Efectividad Biológica Nematicida de Aislados
Microbianos y Extractos Botánicos, sobre el Nematodo Agallador
Meloïdogyne spp en Condiciones de Laboratorio**

POR:

IVÁN ISAI LÓPEZ RAMÍREZ

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Abril de 2012**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**Determinación de la Efectividad Biológica Nematicida de Aislados
Microbianos y Extractos Botánicos, sobre el Nematodo Agallador
Meloidogyne spp en Condiciones de Laboratorio**

POR:

IVAN ISAI LOPEZ RAMIREZ

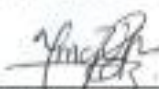
TESIS

**QUE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

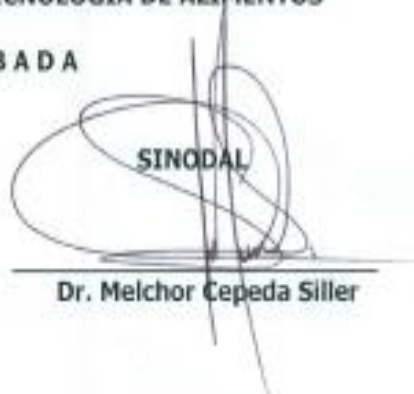
A P R O B A D A

PRESIDENTE DEL JURADO



**Dra. Ana Verónica Charles
Rodríguez**

SINODAL



Dr. Melchor Cepeda Siller

SINODAL



Ing. Melchor Padilla Meza

SINODAL



**Dr. Antonio Francisco Aguilera
Carbó**

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



DR. RAMIRO LOPEZ TRUJILLO

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Mayo de 2012**

Agradecimientos

Principalmente a Dios por darme la oportunidad de estar aquí y ahora, por no soltarme nunca de su mano.

*A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por hacernos sentir sus hijos en nuestro pasó por sus instalaciones. Por permitirme realizar mis estudios proporcionándome todo lo necesario durante toda mi estancia dentro de ella. Por seguir siendo **El Alma Terra Mater** de todos aquellos que quieren superarse.*

*A la empresa **BIORGANIX MEXICANA S.A. de C.V.**, por brindarme la confianza de realizar mi tesis de licenciatura dentro de sus instalaciones y así formar parte de su gran equipo de trabajo estando siempre disponibles para compartirme sus conocimientos que llevaré siempre conmigo.*

*A la **Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez** por haberme brindado su confianza, por la oportunidad de pertenecer a su grupo de trabajo. Por sus conocimientos, tiempo y paciencia en su atenta labor cómo asesor en la realización de este trabajo. De igual manera al **Dr. Antonio Aguilera Carbó** por haber aceptado ser parte del jurado examinador, además de su amistad incondicional durante mi estancia en la universidad.*

*Al Departamento de Parasitología en especial Al **Dr. Melchor Cepeda Siller** por su valiosa participación como asesor de mi trabajo de tesis, su valioso tiempo y paciencia, por los altos conocimientos brindados en la revisión de este trabajo.*

Al Ing. Melchor Padilla Meza por su valioso tiempo dentro y fuera de la empresa BIORGANIX MEXICANA S.A. de C.V asesorando mi trabajo de tesis.

A todos mis maestros que de una y mil maneras sembraron en mi sus conocimientos, se los agradeceré por siempre, buscare transmitirlos a los demás para que permanezcan y se sirvan de ellos como lo hice yo.

Dedicatoria

Dedicada a mis padres:

Con mucho cariño y afecto. Por darme la vida y parte se la suya, por ser ellos quienes me brindaron su completa confianza apoyándome incondicionalmente durante toda mi vida, por sus enormes consejos que más que eso fueron sus ejemplos los que me forjaron a ser una persona de bien, por ser ellos mis PADRES.

Al Sr. Fortino López Martínez. Gracias a ti papá que sin tu apoyo lo más probable es que no hubiera podido terminar con mi licenciatura. Eres para mí el mejor amigo y la persona más brillante con el ejemplo de trabajo, perseverancia y convicción.

En especial a ti abuelo Al Sr. Rosendo López Mar (t). Eres el ejemplo de persona que he seguido, espero que estés orgulloso de mí, nunca te olvidaremos.

A la Sra. Dominga Ramírez Hernández. Con mucho amor a ti madre. Gracias por estar en todo momento dándome aliento para no detenerme nunca.

A la Sra. Eladia Hernández Hernández (t), gracias por tus ejemplos, y cuidarme mucho en mi infancia.

Que Dios los bendiga hoy y siempre.

A mis hermanos; Josué Isaac López Ramírez y Abigail López Ramírez, por ser pilares en mi vida, por su ayuda emocional, por todos sus ejemplos y por demostrarme su confianza durante todo este tiempo.

A mis tíos DR. Luis Ángel López Martínez y Mc. Obedilia González, que a mi llegada con gusto me recibieron y me apoyaron incondicionalmente durante toda mi carrera.

A María Isabel Reyes Arreozola, que en el primer momento que te conocí despertaste el más hermoso sentimiento que ha llegado a concebir mi corazón, ese sentimiento tan especial y tan maravilloso es el "amor". Es un sentimiento tan profundo que me hace sentir lo hermosa que puede ser la vida solamente a tu lado.

A mis amigos; Carlos Arguelles flores, Francisco Daniel Siller Juárez, Jorge Alejandro Siller Juárez, Christian Paul de la Cerda Suarez, Mario Adolfo Granados Hernández, Carlos castillo, Efrén Hernández Lara, Dolores Barranco Valle. Por llenarme de gratos momentos al brindarme su apoyo confianza y conocimientos, durante toda mi formación profesional y porque seguirán formando parte de mi vida por siempre. A todos aquellos que en parte me regalaron su amistad y apoyo, los llevo en mi mente y corazón.

Dedicada a todas y cada una de las personas que me apoyaron y confiaron en mí...Gracias.

ÍNDICE GENERAL

| CONCEPTO | PAG. |
|---|------|
| AGRADECIMIENTOS | i |
| DEDICATORIA | iii |
| ÍNDICE DE GENERAL | v |
| ÍNDICE DE CUADROS | vii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | viii |
| RESUMEN | 1 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 2 |
| 1.1. Antecedentes | 2 |
| 1.2. Justificación | 4 |
| 1.3. Hipotesis | 5 |
| 1.4. objetivo general | 5 |
| 1.4.1. Objetivos específicos | 5 |
| 2. REVISIÓN DE LITERATURA | 6 |
| 2.1. Los nematodos | 6 |
| 2.2. Historia del nematodo de los nódulos radiculares | 7 |
| 2.3. Generalidades de <i>Meloidogyne</i> spp. | 7 |
| 2.3.1. El género <i>Meloidogyne</i> spp. | 8 |
| 2.3.2. Taxonomía, morfología, comportamiento y daños | 8 |
| 2.3.3. Ciclo de vida de <i>Meloidogyne incognita</i> | 9 |
| 2.3.4. Taxonomía | 12 |
| 2.3.5. Reproducción | 12 |
| 2.4. Efectos de <i>Meloidogyne incognita</i> en plantas hospederas | 13 |
| 2.4.1. Físicos | 13 |
| 2.4.2. Fisiológicos | 13 |
| 2.4.3. Predisposición | 13 |
| 2.5. Control químico | 14 |
| 2.6. Control biológico | 14 |
| 2.6.1. Virus | 15 |
| 2.6.2. <i>Rickettsias</i> | 15 |
| 2.6.3. Bacterias | 15 |
| 2.7. Hongos antagónicos | 16 |
| 2.8. Antecedentes del uso de extractos vegetales | 19 |

| | |
|--|----|
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS | 20 |
| 3.1. Plaga evaluada | 20 |
| 3.2. Evaluaciones y parámetros evaluados | 20 |
| 3.3. Muestreo de suelo con presencia de nematodos, <i>Meloidogyne</i> spp. | 20 |
| 3.4. Bioensayo <i>in vitro</i> | 21 |
| 3.4.1. Primera etapa | 21 |
| 3.4.2. Segunda etapa | 23 |
| 3.5. Diseño y unidad experimental | 24 |
| 3.6. Extracción de nematodos de forma filiforme por métodos de embudo de Baerman | 25 |
| 3.6.1. Identificación taxonómica de nematodos fitopatógenos | 26 |
| 3.7. Distribución de los tratamientos | 27 |
| 3.8. Análisis de datos | 27 |
| 3.8.1. Variables evaluadas | 27 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 29 |
| 4.1. Efecto en condiciones de laboratorio de control con aislados microbianos sobre <i>Meloidogyne</i> spp. | 29 |
| 4.2. Efecto en condiciones de laboratorio de control con extractos botánicos sobre <i>Meloidogyne</i> spp. | 31 |
| 5. CONCLUSIONES | 35 |
| 6. ANEXOS | 36 |
| 7. LITERATURA CITADA | 39 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | Pág. |
|---|-------------|
| 1. Tratamientos empleados en el bioensayo in vitro con las formulaciones a base de aislados microbianos. | 22 |
| 2. Tratamientos empleados en el bioensayo in vitro con las formulaciones a base de extractos botánicos. | 23 |
| 3. Distribución de los tratamientos. | 27 |
| 4. Poblaciones Inicial promedio y diferencia estadística de nematodos filiformes para el ensayo con aislados microbianos. | 29 |
| 5. Poblaciones final promedio y diferencia estadística de nematodos filiformes para el ensayo con aislados microbianos. | 30 |
| 6. Porcentaje de mortalidad corregida de cada tratamiento para el ensayo con aislados microbianos. | 31 |
| 7. Poblaciones inicial promedio y diferencia estadística de nematodos filiformes para el ensayo con extractos botánicos. | 32 |
| 8. Poblaciones final promedio y diferencia estadística de nematodos filiformes para el ensayo con extractos botánicos. | 33 |
| 9. Porcentaje de mortalidad corregida de cada tratamiento para el ensayo con extractos botánicos. | 34 |
| 10. Población inicial de nematodos filiformes para la prueba con aislados microbianos. | 36 |
| 11. Población final de nematodos filiformes para la prueba con aislados microbianos. | 36 |
| 12. Población inicial de nematodos filiformes para la prueba con extractos botánicos. | 37 |
| 13. Población final de nematodos filiformes para la prueba con extractos botánicos. | 37 |
| 14. ANOVA para población inicial de nematos filiformes tratados con aislados microbianos | 38 |
| 15. ANOVA para población final de nematos filiformes tratados con aislados microbianos | 38 |
| 16. ANOVA para población inicial de nematos filiformes tratados con extractos botánicos | 38 |
| 17. ANOVA para población final de nematos filiformes tratados con extractos botánicos | 38 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|--|-------------|
| 1. Prueba in vitro, montada en condiciones controladas. | 24 |
| 2. Monitor de control para las condiciones establecidas en las pruebas in vitro. | 24 |
| 3. Suelo perfectamente mezclado listo para montaje de pruebas. | 25 |

MANIFIESTO DE HONESTIDAD ACADÉMICA

El suscrito, Iván Isai López Ramírez, estudiante de la carrera de Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos con matrícula 283697 y autor de la presente tesis manifiesto que:

1. Reconozco que el plagio académico constituye un delito que está penado en nuestro país.
2. Las ideas, opiniones, datos e información publicadas por otros autores y utilizadas en la presente tesis han sido debidamente citadas reconociendo la autoría de la fuente original.
3. Toda la información consultada ha sido analizada e interpretada por el suscrito y redactada según su criterio y apreciación de tal manera que no se ha incurrido en el “copiado y pegado” de la dicha información.
4. Reconozco la responsabilidad sobre los derechos de autor de los materiales bibliográficos consultados por cualquier vía y manifiesto no haber hecho mal uso de ellos.
5. Entiendo la función y alcance de mi comité de asesoría, está circunscrito a la orientación y guía respecto a la metodología de la investigación realizada para la presente tesis, así como el análisis y la interpretación de mis resultados obtenidos, y por lo tanto eximo de toda responsabilidad relacionada al plagio académico al comité de asesoría y acepto cualquier responsabilidad al respecto es únicamente mía.

Iván Isai López Ramírez
Tesista de licenciatura/UAAAN

RESUMEN

El problema de los nematodos en la agricultura se ha convertido en uno de los más importantes por las grandes pérdidas en producción y como consecuente económicas. Existe una gran diversidad de productos agroquímicos orientados al control de nematodos, pero estos por su alta toxicidad representando un riesgo al medio ambiente su uso esta siendo limitado por la existencia de otras alternativas como son extractos botánicos, microorganismos y productos naturales que son menos agresivos con el medio ambiente y la salud humana. En la presente investigación se estudió el efecto nematocida y/o nematostático de aislados microbianos y extractos botánicos, sobre muestras de suelo con presencia del nematodo agallador *Meloidogyne*, bajo condiciones de laboratorio, mediante la metodología del embudo de Baerman (Rubia, 2003). El diseño experimental fue bloques al azar con 9 tratamientos y un testigo absolutos con tres repeticiones para cada uno, las variables evaluadas fueron: población inicial, población final y % de mortalidad. Estadísticamente el mejor tratamiento fue *Bacillus thuringiensis* fueron los que mostraron un mayor control de los nematodos *Meloidogyne* spp. mostrando tener hasta un 98.05 % de eficacia, el aislado identificado como 33 también demostró antagonismo a los nematodos con un 97.17 % de eficacia y la combinación de los aislados *Paecilomyces* + *Beauveria Bassiana* resultaron trabajar de manera eficiente contra el patógeno demostrando tener un 96.48 % de eficiencia. Para el caso de los extractos botánicos, el extracto de gobernadora demostró ser un contundente elemento para el control de este nematodo con una eficacia del 97.35 %, seguido del extracto identificado como NB-15 con 96.63 % de eficacia, y los acondicionadores y el agua de coco manifestaron un efecto nematocida aceptable; los acondicionadores con un 94.96 % y el agua de coco un 94.89 % de eficacia. Los mejores resultados fueron obtenidos por los aislados *Bacillus thuringiensis* y el extracto de gobernadora superando a todos los tratamientos evaluados en esta investigación.

Palabras clave: nematodos, *Meloidogyne incognita*, aislados microbianos y extractos botánicos.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

En la agricultura moderna se requieren altos rendimientos para poder responder ante las necesidades de la población; el empleo de plaguicidas químicos ha sido parcialmente satisfactorio por varias décadas. Las sustancias químicas utilizadas para el control de plagas en la agricultura ha ocasionado un creciente deterioro en el ecosistema, y esto ya es reflejado en los alimentos producidos bajo este mismo régimen ya que tendrán un alto grado de contaminación mostrándose como un riesgo para la salud de las personas que los consuman.

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) calcula que las pérdidas debido a las plagas, enfermedades y malezas se acercan a un 35 % en los cultivos de gran interés económico. Y las plagas que atacan al sector agrícola y ganadero, los nematodos son los responsables de las pérdidas consideradas y valoradas en 100 mil millones de USD anuales. La demanda de productos nematicidas en el mercado nacional e internacional crece al paso del tiempo, pero sobre todo se toma mucho en cuenta el impacto ecológico. Es por eso que se están desarrollando productos orgánicos que ayuden a los productores a disminuir las pérdidas que llegan a ocasionar las plagas, sin dañar más al medio ambiente.

Esto estimula considerablemente el interés de usar patógenos como agentes de biocontrol de plagas en el área agrícola. Tal es el caso de los nematodos asociados a los daños de los cultivos de gran interés económico, el nematodo agallador o también conocido como el nematodo de los nódulos radiculares es el de mayor importancia por las pérdidas económicas que este llega a ocasionar, (Bruton *et al.*, 2004). Debido a que los nematodos se encuentran en el suelo, son de las plagas que se requiere sean estudiadas y tratados con metodologías de laboratorio para su identificación y diagnóstico.

Estadísticamente se calcula que los nematodos fitoparásitos llegan a reducir cerca del 12 % de la producción global agrícola (Stirling *et al.*, 2002). De los nematodos parásitos de plantas, cada año ocasionan una pérdida cerca del 14 % en cultivos de hortalizas y frutales importantes económicamente en EUA (Appleman y Hanmer., 2003). *Meloidogyne incognita* es de la especie de nematodo agallador que se encuentra distribuido e infestado en la mayor parte del territorio de Coahuila (Guzmán, 2007) y ampliamente distribuido en las regiones hortícolas de México y en el mundo (Cepeda, 1996; Pardo *et al.*, 2001). Y así se pueden mencionar más áreas con diferentes cultivos donde esta especie afecta notablemente, tal es el caso de las pérdidas de melón en California que es común presentarse al principio de la temporada (CMRAB, 2006).

Los nematodos noduladores de raíces *Meloidogyne* spp., son los nematodos fitopatógenos más importantes tanto por su amplia distribución a nivel mundial y por el elevado número de plantas susceptibles a su parasitismo obligado (Sharma *et al.*, 1992; Castillo *et al.*, 2008). Este grupo de nematodos, que se sitúa entre los parásitos de plantas más exitosos con más de 90 especies descritas que infectan miles de plantas herbáceas y leñosas (Karssen y Moens, 2006), son difíciles de controlar porque, al ocurrir su ciclo biológico en el suelo e interior de las raíces de las plantas huéspedes, quedan protegidos por la matriz gelatinosa y el tejido radical, y no existen compuestos químicos selectivos contra ellos (Gheysen y Fenoll, 2002).

El nematodo agallador *Meloidogyne incognita* está presente en varias zonas agrícolas de México, atacando a un gran número de especies cultivadas, donde ocasiona pérdidas de consideración en el rendimiento y productividad (Del Prado-Vera *et al.*, 2001).

El método de control nematológico más efectivo es el químico; sin embargo, la mayoría de los productos químicos utilizados como nematicidas, ya sean fumigantes o no fumigantes (granulares y emulsiones) presentan riesgos al medio ambiente, por lo que su uso debe ser limitado siempre que

existan alternativas. Por otra parte, la economía de producción de la cosecha no permite en muchos casos un retorno suficiente de la inversión para justificar el uso de nematicidas. Actualmente se está investigando activamente en las propiedades nematicidas de muchos extractos y productos naturales a fin de proporcionar una nueva generación de nematicidas menos tóxicos y menos agresivos hacia el medio ambiente y la salud humana.

1.2. Justificación

En México como en el mundo el problema de contrarrestar el efecto dañino que causan los nematodos a los cultivos se ha convertido en el más sobresaliente en el área agrícola, y los productos nematicidas químicos existentes tienen un impacto ambiental bastante notable, es por eso que los productos para el control biológico (a base de extractos) están siendo aceptados para disminuir este tipo de problema. Esta realidad ha hecho que cada día haya mayor conciencia de la importancia de los nematodos y para abordar el control de estos, se trabajara con una visión integral ya que a la presencia de nematodos se suman otros elementos que tienden a engranarse, como el manejo del riego, factores físicos y químicos del suelo, otros agentes patógenos como bacteria y hongos.

El aspecto que consideramos más importante es el manejo del nematicida y el daño que se pueda ocasionar al medio ambiente. Ya que los nematicidas existentes en el mercado son peligrosos químicamente y para su manejo se requieren medidas extremas de seguridad ya que tienen un alto nivel de toxicidad. Y lo que buscamos con estas fórmulas a bases de extractos es obtener un producto nematicida de buenas características y reducir al mínimo el impacto ambiental.

1.3. Hipótesis

Al menos uno de los aislados microbianos y/o extractos botánicos presentara efecto de control sobre el nematodo agallador *Meloidogyne* spp.

1.4. Objetivo general

Evaluar la efectividad biológica de diferentes aislados microbianos y extractos botánicos sobre el nematodo agallador *Meloidogyne* spp. bajo condiciones de laboratorio.

1.4.1. Objetivos específicos

- Identificar al menos una cepa microbiana con efecto nematocida y con aceptable eficacia.
- Identificar por lo menos una de las formulaciones botánicas que demuestre un control sobre el nematodo *Meloidogyne incognita* con un nivel aceptable de eficacia.
- Relacionar el efecto nematocida con el grado de efectividad requerido para valorar el potencial biológico de diferentes cepas microbianas y diferentes extractos y/o formulaciones tipo botánicos.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Los Nematodos

Los nematodos son los más abundantes animales multicelulares de la tierra. Ellos forman un grande y diverso grupo de lombrices microscópicas redondas, no segmentadas y se encuentran virtualmente en todas partes. Se considera que solamente cerca del 10 % de todas las especies de nematodos descritos son parásitos de plantas. Diferentes especies de nematodos parásitos de las plantas pueden habitar e infectar la mayoría de las partes vivientes de las plantas, incluyendo flores, yemas, hojas, tallos y raíces (Malcolm *et al.* 2000).

Aproximadamente en 0.5 kg se suelo en un campo cultivado fértil con un cultivo de amplia cobertura, generalmente contiene de diez a veinte especies que pertenecen a diversos géneros, incluyendo ecto-parásitos y endo-parásitos, depredadores y saprófitos. Su importancia a nivel mundial como agentes causales de enfermedades de un rango amplio de especies de plantas de gran impacto económico, fue reconocida hasta mediados de los años 1940. El daño causado por los nematodos en los cultivos anuales se relaciona con la densidad de población con los mismos en el suelo al momento de la siembra. Una población elevada en el suelo, puede reducir el rendimiento o el valor estético del hospedero o bien puede ocasionarle la muerte. El problema causado por los nematodos es un importante factor que limita el rendimiento de los cultivos en la mayoría de las áreas tropicales y subtropicales del mundo pero muchas veces este problema es ignorado. A nivel mundial las pérdidas causadas por los nematodos en cultivos consumidos por los humanos es estimado entre 11 y el 14 % lo que significa un total de casi 80 billones de dólares (Malcolm *et al.* 2000).

2.2. Historia del nematodo de los nódulos radiculares

En agosto de 1877, Jobert (1878) al observar árboles enfermos en huertas de café, en la provincia de Rio de Janeiro, Brasil, pudo observar las raíces fibrosas con numerosas agallas en diferentes partes de las raíces. Las agallas terminales eran periformes, agudas y frecuentemente curvadas. Las más grandes eran del tamaño de un chícharo pequeño y contenían quistes. También encontró huevos elípticos que contenían gusanos. Noto que los gusanos emergían de los huevos, de las raíces y se encontraban en el suelo. Aparentemente Jobert no tuvo tiempo de realizar más estudios antes de descubrir su informe (Taylor y Sasser, 1983).

Después de 10 años, Goldi (1887) investigo el mismo problema en el mismo cultivo y publicó un documento sobre la enfermedad de los cafetales. (Taylor y Sasser, 1983). Fue hasta entonces que nombro al nematodo agallador *Meloidogyne exigua*, como la causa esta enfermedad (Taylor y Sasser, 1978).

Estas fueron las primeras investigaciones sobre la especie *Meloidogyne* como causante de una enfermedad importante en un cultivo económico (Taylor y Sasser, 1983).

2.3. Generalidades de *Meloidogyne* spp.

A nivel mundial el género *Meloidogyne* spp., ocupa el primer lugar en importancia, por la severidad de los daños que incluye la reducción de la producción, los culés pueden causar pérdidas anuales de 100 billones de euros en alrededor de 3000 plantas hospederas para este nematodo (Abad *et al.*, 2003) debido a que se trata de una especie polífaga con una muy amplia distribución. Las especies más comunes a nivel mundial y en México son: *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* y *M. alpha* (Hartman y Sasser, 1985; Jones 1981, Sasser, 1977). Los síntomas más frecuentes que presenta una planta que está siendo afectada por *Meloidogyne* spp. son;

amarillamiento de las hojas, poco desarrollo, deficiencia de agua en horas de mayor calor por que las raíces ya presentan agallas o nódulos ocasionados desde el momento de la penetración de las larvas juveniles del segundo estadio, las cuales hacen expresar de manera externa los daños que causan a nivel de tejidos radicales y en las células se desarrolla hipertrofia alrededor de la cabeza del nematodo y la sobre multiplicación celular (hiperplasia) que da como resultado las agallas o nódulos (Carrillo-Fasio, 2000).

El control de los nematodos en nuestro país ha sido con la aplicación de nematicidas formulados químicamente, que conllevan esa desventaja para su manejo por ser altamente tóxicos, por el lado económico tienen en el mercado precios relativamente altos.

2.3.1. El género *Meloidogyne* spp.

Son los nematodos que provocan la hipertrofia, fuerte ramificación, con lesiones necróticas y pudrición, obstaculización del crecimiento de la planta mostrando marchites y debilitación. Las plantas atacadas por nematodos no demuestran tantas diferencias en síntomas como las que ocurren en plantas atacadas por hongos y bacterias. Las lesiones que ocasiona el nematodo puede en ocasiones favorecer la entrada de enfermedades fungosas, bacterianas y virales (FIAV, 2007).

2.3.2. Taxonomía, morfología, comportamiento y daños

La información detallada sobre la morfología y anatomía del nematodo es necesaria para comprender la interacción que existe entre el nematodo y el medio ambiente, y así conocer la compleja relación entre el nematodo y el hospedero. Y por ende la interacción hospedero-parásito que se considera que tiene influencia directa en la morfología del nematodo (Cepeda, 1996).

2.3.3. Ciclo de vida de *Meloidogyne incognita*

La morfología de los nematodos agalladores de raíces cambia durante su ciclo de vida. En todas las especies de *Meloidogyne* es esencialmente la misma morfología y el mismo ciclo (Brodie, 1984).

Inicia en un huevo en estado unicelular, pueden estar libres al suelo o embebidos en una matriz gelatinosa la cual puede estar adherida a los tejidos de la raíz de la planta hospedante ó a la hembra la cual produce de 500 a 1000 huevos (Giran y Ritter, 1979; Taylor y Sasser, 1983 y Brodie, 1984).

El desarrollo del huevo comienza brevemente después de la ovoposición, por división celular hasta formar completamente la larva con un estilete enrollado en la membrana del huevo; esta puede moverse dentro del huevo, pero no es muy activa. Hasta esta etapa se tiene el primer estado larval y en el sucede la primera muda (Guiran y Ritter, 1979; Taylor y Sasser, 1983; Brodie, 1984 y Mai y Abawi, 1987).

Después de la ovoposición la larva emerge del huevo si las condiciones ambientales son favorables, dando lugar al segundo estadio larval. La infectividad de la larva del segundo estadio de *Meloidogyne* spp está en función de la temperatura ambiental, aireación, humedad, densidad del suelo, así como en función de la distancia de la larva a la raíz (Griffin y Jorgenson 1969; Griffin 1979 y Taylor y Sasser, 1983). En esta etapa puede entrar a la raíz principalmente cerca de la punta (zona con actividad meristemática) y se mueven principalmente entre las células no diferenciadas por la raíz e introducen sus cabezas en el cilindro central en desarrollo; en hospedantes susceptibles, estas larvas inducen la formación de células gigantes de las cuales continúan alimentándose y es a través de su estilete con el que perforan la pared de las células e inyectan secreciones de sus

glándulas esofágicas. Dichas secreciones causan un agrandamiento de las células en el cilindro bascular y aumenta la proporción de la división celular en el periciclo, esto da lugar a la formación de células gigantes (hipertrofia). Al mismo tiempo hay una intensa multiplicación de células vegetativas (hiperplasia) alrededor de la cabeza de la larva. Estos cambios son acompañados por el engrosamiento de la raíz ó tubérculos para formar agallas. Cuando completan la segunda y tercera muda en la hembra, el estilete y el bulbo medio esofágico desaparecen (Taylor y Sasser, 1983; Mai *et al.*, 1986 y Agrios, 1988).). Después de la cuarta muda (Juvenil 4 o adulto) el estilete y el bulbo son regenerados; se forman el útero, la vagina y el patrón perineal se hace visible (Taylor y Sasser, 1983, y Eisenback *et al.*, 1983). En el macho, después de la segunda y tercera muda el estilete no es muy visible, el bulbo medio es regenerado y solo la gónada se ha alargado, posteriormente ocurre una metamorfosis, el cuerpo alargado se desarrolla dentro de una cutícula larval, se completa con el estilete, esófago con el bulbo medio, espículas y esperma en los testículos (Franklin, 1962; Guiran y Ritter, 1979; Taylor y Sasser. 1983 e Hirschmann, 1985). Los diversos estadios de desarrollo descritos en resumen son los siguientes:

Estado A: los juveniles son Vermiformes y delgados (Juvenil 2 inicial).
Estado B: los juveniles comienzan a ensancharse y poseen una cola más o menos cónica (Juvenil 2). Estado C: los juveniles están hinchados y en su parte posterior tienen una forma adelgazada (del anterior Juvenil 2 a Juvenil 3). Estado D: los juveniles están hinchados y no presentan terminación posterior adelgazada (Juvenil 4 y adulto temprano). Estado E: hembras completamente desarrolladas pero no depositan huevos. Estado F: hembras grávidas depositantes de huevos (Taylor y Sasser, 1983).

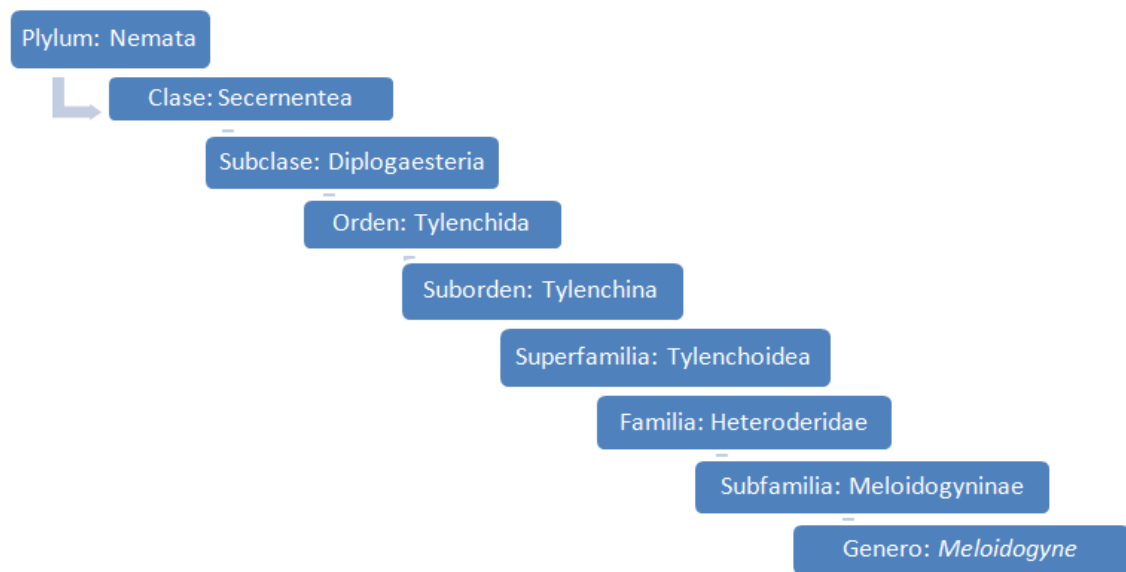
El número de generaciones por año de *M. incognita* varía de acuerdo a la temperatura y humedad favorable. En zonas con temperatura apropiadas de cultivos de papa el tiempo de generación es de cuatro a seis semanas ó a los 28 días en suelos con una temperatura de 26 a 31° (Daulton y Nusbaum, 1961; Griffin y Jorgenson, 1969; Guiran y Ritter, 1979 y Brodie, 1984). Se presenta muy poca actividad en cualquiera de las especies de *Meloidogyne* a temperaturas arriba de 40° C o por debajo de 5°C (Taylor y Sasser 1978). En California (EUA) se reporta que el ciclo de vida de *M. incognita* se completa en 20 a 25 días a 21.3° C (UCD, 2006b).

Algunos factores que afectan la sobrevivencia de las larvas de *M. incognita* son: potencial hídrico, tamaños de las partículas, oxígeno y otros gases de la capa rizosfera del suelo. Pero mayormente la presencia de plantas hospedantes. Además, se ha observado un efecto repulsivo sobre las larvas de *Meloidogyne incognita* y *M. javanica* por concentraciones de sales en el suelo. Los machos de *M. incognita* son más abundantes que las hembras bajo condiciones adversas de desarrollo (Davidson y Townshend, 1967; guiran y Ritter, 1979; Mai *et al.*, 1989 y Mai y Abawi, 1987).

2.3.4. Taxonomía

Ubicación taxonómica del nematodo agallador ó nodulador: (UCD, 26; Taylor y Sasser, 1978; Cepeda, 2001)

En la figura 1 se muestra la ubicación taxonómica del genero *Meloidogyne incognita*.



2.3.5. Reproducción

El sistema reproductivo de la hembra de *M. incognita* consta de dos ovarios, cada una con una zona germinal, zona de crecimiento, oviducto, espermatéca y útero. Los huevos pasan a través de la vagina y son depositados en estado unicelular en la masa de huevos. Esta clase de reproducción se llama partenogénica (mitótica) y es muy común en *Meloidogyne* spp., *M. arenaria*, *M. javanica* y *M. hapla*, de esa manera se conserva el número diploide de cromosomas (Taylor y Sasser, 1983; Hirschmann, 1985).

2.4. Efectos de *Meloidogyne incognita* en plantas hospederas

2.4.1. Físicos

Las especies de *Meloidogyne*, además de causar la formación de células gigantes y agallas, provoca en las raíces y tubérculos altamente infestados; el acortamiento o disminución de raíces laterales, escasos pelos radicales que al romperse, los elementos basculares en las agallas se interrumpen en forma mecánica el flujo de agua y nutrientes (Taylor y Sasser, 1983; Brodie, 1984).

2.4.2. Fisiológicos

Los daños de *M. incognita* traen un aumento en la producción de proteína en las agallas y un mal funcionamiento en los reguladores de crecimiento entre las raíces y el tallo. Estos cambios fisiológicos contribuyen a la reducción del crecimiento y desarrollo de las plantas hospedantes (Taylor y Sasser, 1983; Bauer, 1984).

2.4.3. Predisposición

El cultivo de papas es muy susceptible de *M. incognita* causando daños importantes a los tubérculos; sin embargo, estos pueden escapar de un ataque cuando se siembra en una época del año *Meloidogyne* spp no es activa (Brodie, 1984; Jiménez y López, 1987). La especie de *Meloidogyne incognita*, al atacar raíces y tubérculos, causa cambios fisiológicos en dichas partes y favorecen invasiones posteriores de hongos, bacterias, virus, otros nematodos y plagas insectiles del suelo (Powel, 1971; Taylor y Sasser, 1983 y Mai y Abawi, 1987).

En la naturaleza es frecuente encontrar a *M. incognita* asociada con otros microorganismos que pueden inhibir, acelerar ó incrementar la gravedad del agallamiento o de la enfermedad en general, provocando así “enfermedades complejas”, y tres son los sistemas biológicos que se encuentran involucrados en estas interacciones: nematodos, plantas y hongos, bacterias ó virus (Powell, 1971; Mai y Abawi 1987).

2.5. Control químico

Las medidas de control convencionales se basan en la aplicación frecuentemente de fumigantes, insecticidas, nematocidas químicos residuales que por su amplio espectro de acción eliminan no solo la plaga sino también sus enemigos naturales. En los casos de algunos granos para la alimentación, existen severas restricciones al uso de pesticidas impuestos por las normas de bioseguridad, además de las limitaciones toxicológicas y ambientales. Asimismo la constante exposición a los tratamientos químicos, ha incluido al desarrollo de resistencia de esta especie a diferentes grupos de insecticidas (Akbar *et al.*, 2004).

2.6. Control biológico

Los fitonematodos coexisten en la rizosfera con gran diversidad de microorganismos de los cuales han sido aislados e identificados como antagonista de los nematodos, ya que ejercen algún tipo de control biológico (Sikora 1992). Estos enemigos naturales de los nematodos pueden ser depredadores, que los matan y se los comen, como hongos y otros nematodos, o paracitos que viven a expensas suyas causando su muerte paulatina, entre los que se pueden mencionar virus, protozoos, bacterias y hongos (Taylor 1971, Yépez 1972, Coosemans 1993, López 2004, Khan *et al.* 2006).

Los microorganismos en el control de los nematodos, han demostrado tener un alto nivel de eficacia, para ello actúan con diferentes mecanismos (Emmert y Handelsman, 1999; Siddiqui y Mahmood, 1999; Meyer, 2003; Tian *et al.*, 2007). La secreción de enzimas es uno de los principales mecanismos que emplean los fermentos para inhibir el desarrollo de los nematodos.

2.6.1. Virus

Algunos reportes sobre enfermedades de nematodos causadas por virus son; cambios morfológicos en la estructura normal de los cuerpos de *Meloidogyne* spp. y *Tylenchorhynchus martini* evidentemente ocasionadas por partículas virales (Mankau, 1980).

2.6.2. Rickettsias

Se sabe que los efectos patológicos de *Rickettsias* en nematodos son mínimos, un ejemplo típico de lo anterior es el caso de microorganismos intracelulares identificados como *Rickettsias* en *Heterodera goettinguiana*, *H. glycines* y *Globodera rostochiensis* ocasionando daños menores (Mankau, 1980).

2.6.3. Bacterias

Una alternativa para tratar de resolver el problema que los agroquímicos impactan al medio ambiente la constituyen la diversidad de productos microbianos (Kurstak, 1982); estos están conformados por microorganismos patógenos, los cuales son utilizados para realizar un control natural de plagas.

Actualmente el agente bacteria más conocido es *Pasteuria penetrans* anteriormente identificado como *Bacillus penetrans* (Sayre y Starr, 1985).

Entre los bioinsecticidas más usados y efectivos se encuentra la bacteria *Bacillus thuringiensis* Berliner; que constituyen una de las mejores alternativas viables para el control de plagas, ya que es inocuo para el hombre, animales domésticos, flora y fauna silvestre; y además es susceptible de mejorarse genéticamente. La actividad tóxica de *B. thuringiensis* radica en la particularidad de producir varios tipos de toxinas, de las cuales solo dos son importantes, la δ -endotoxina y la β - exotoxina; ambas han recibido una gran atención debido a las propiedades que presentan (Dulmage y Aizawa, 1982).

2.7. Hongos antagónicos

Los hongos antagónicos a nematodos consisten en una gran variedad de organismos que incluyen los hongos depredadores-atrapadores de nematodos, hongos endoparásitos, parásitos de huevos de nematodos y hongos que producen metabolitos tóxicos a nematodos, que la mayoría de estas especies son cosmopolitas (Mankau, 1980a).

Algunas especies tienen esporas que deben ser ingeridas por el nematodo para germinar en el esófago y de ahí consumir al nematodo. Otros hongos presentan esporas especializadas para la adhesión y penetración en la cutícula del nematodo. En hongos inferiores, las esporas motiles tienen tropismo positivo hacia los nematodos (Mankau, 1980b).

En los hongos depredadores-atrapadores hay especies que secretan una toxina que inmoviliza al nematodo al penetrarlo y otras lo hacen sin estar en contacto directo con la presa; estos hongos tienen los siguientes órganos atrapadores; algunos se cubren con mucilago; anillos constrictores y trampas

que tienen sistema químico intoxicador y otros con órganos atrapadores que secretan sustancias atractivas a nematodos. Por otro lado, estos hongos desarrollan estructuras de resistencia como microesclerocios y, muchas de las veces tienden a ser débiles competidores saprofiticos siendo algunos suelos fungistáticos a ellos (Mankau, 1980).

A continuación se presenta una revisión de hongos antagónicos a nematodos señalando hongos atrapadores y endoparásitos, parásitos de huevos y quistes, sobre todo *P. lilacinus* en *M. incognita* que es el objetivo principal en esta complicación.

Mankau y Mckenry (1976) detectaron control natural de *Meloidogyne* spp. en durazno por los hongos atrapadores *Arthrobotrys conoides*, *A. dactyloides*, *A. musiformis*, *Monacrosporium* spp. y *Dactylaria* spp.

Mankau y Wu (1985) encontraron a *Monacrosporium* y *Lipsosporium* asociado a masas de huevos de *Meloidogyne incognita* que al tratar a las larvas tan pronto como emergían, observaron una disminución en el número de agallas de 50 por ciento.

Balan *et al.* (1974) reportaron la presencia de sustancias atrayentes y toxicas a nematodos producidas por los hongos *Arthrobotrys conoides*, *A. oligospora* y *Monacrosporium rutgeriense*.

En estudios sobre *Bactylella leptospora* y *Acualopage pectospora* se describe a los órganos atrapadores surgiendo de hifas y presentando un hinchamiento terminal con la presencia de sustancias adhesivas (Saikawa, 1985; Saikawa y Morikawa, 1985a).

En diversos experimentos se dieron a conocer las habilidades del hongo endoparásito de nematodos *Meria coniospora* (*Drechmeria*

coniospora) para adherirse a la cutícula de la cabeza del huésped, para penetrarlo, desarrollarse y esporular (Jansson, 1985; Jansson y Norbring Hertz, 1984; Jansson *et al.*, 1985).

El descubrimiento de los hongos parásitos de huevos es relativamente reciente, la dificultad de observar huevos de nematodos en el suelo o la extracción de ellos del suelo ha sido probablemente la causa de las observaciones al respecto hasta la fecha. La mayoría de los hongos que parasitan huevos producen hifas internas y similares y pueden ser identificados solo después del aislamiento y subsecuente esporulación (Mankau, 1980a).

Morgan-Jones *et al.* (1984) reportan dos hifomicetos parásitos de huevos de *Meloidogyne arenaria* dando la posibilidad de uso como agentes de control biológico; estos hongos fueron: *Xenokylindria obovata* y *X. prolifera*.

Entre los hifomicetos del suelo asociados con la patología de *Meloidogyne* spp. en algunas partes del mundo se conoce como un efectivo parásito de huevos a *Paecilomyces lilacinus*. A pesar de su amplia distribución, la especie ocurre con gran frecuencia en áreas con clima caliente y en particular los trópicos (Morgan-Jones *et al.*, 1984a).

Los nematólogos del centro internacional de la papa (CIP) en Lima, Perú, descubrieron al hongo *P. lilacinus* que controlaba consistentemente y eficientemente las poblaciones del nematodo agallador considerándose como un organismo que tiene muchos atributos para ser un próspero agente de control biológico (Jatala, 1985).

2.8. Antecedentes del uso de extractos vegetales

El uso de extractos vegetales se ha usado desde hace ya muchos años en forma acuosa, o material molido y hecho polvo de plantas para la prevención y control de enfermedades. Recientemente, Montes (2000) publicó un artículo donde hace un análisis retrospectivo de las investigaciones sobre las propiedades insecticidas y anti-fúngicas de las plantas superiores. En las investigaciones sobre plantas con propiedades anti-fúngicas se evaluaron un total de 206 especies contra la actividad de 26 especies de hongos fitopatógenos, incluyendo las pruebas de germinación de esporas, desarrollo micelial, esporulación y pruebas de invernadero y campo en algunos casos. Las formulaciones de productos vegetales utilizados han sido: extractos acuosos, polvos, aceites esenciales y metabolitos secundarios. Y se indicó en los resultados que entre el 32 y 51% de las plantas evaluadas interactúan con los hongos y la respuesta de los patógenos varía desde la estimulación hasta su totalidad inhibición (Montes 2000).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La prueba fue establecida en el laboratorio de fisicoquímicos de la empresa Biorganix Mexicana S. A. de C. V., ubicado en la ciudad de Ramos Arizpe, Coahuila, México, a 1400 msnm.

3.1. Plaga evaluada

Nematodo agallador *Meloidogyne incognita*.

3.2. Evaluaciones y parámetros evaluados

En el laboratorio del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, se desarrollaron pruebas preliminares a nivel laboratorio que consistían en la evaluación de los mismos tratamientos de las dos modalidades (aislados microbianos y formulaciones tipo botánico). Las cuales fueron útiles para hacer una comparación con los resultados que ahí se obtuvieron y con los que dentro de la Empresa Biorganix Mexicana S.A. de C.V. se logró obtener. El parámetro fue el porcentaje de control de los nematodos de la especie en estudio con respecto a los testigos absolutos, con base al conteo de la población final después de la aplicación de cada tratamiento.

3.3. Muestreo de suelo con presencia de nematodos, *Meloidogyne* spp.

El control depende por una parte de la identificación del género y cantidad de nematodos existentes en las muestras de suelo, lo cual se determina a través del análisis. Para que el análisis sea confiable debe ser representativo de toda la superficie y realizar el muestro a la profundidad apropiada (Cepeda, 1995).

Se inició con un muestreo completamente al azar en campos agrícolas con historial de presencia de nematodos a estudiar, en este caso las especies *Meloidogyne incognita* y *Dorylaimus* spp., dicho muestreo se hizo en el mes de marzo de 2011, las muestras fueron colectadas en los campos experimentales de la empresa Biorganix Mexicana SA de CV naturalmente infestados, también contamos con el apoyo del Dr. Melchor Cepeda Siller de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro quien nos proporcionó muestras de suelo infestado de nematodos colectado en varias partes de la República Mexicana.

3.4. Bioensayo *in vitro*

Para realizar los estudios sobre los posibles efectos nematicidas y/o nematostáticos de las formulaciones a base de microorganismos y formulaciones de tipo vegetal ó botánico, bajo condiciones de laboratorio, se utilizó una población de nematodos extraídos de las muestras colectadas, se establecieron dos etapas en las que se dividió de la siguiente manera: en la primera etapa se realizaron bioensayos con tratamientos a base de microorganismos y la segunda etapa en la aplicación de formulaciones botánicas realizando bioensayos para evaluar dichos tratamientos.

3.4.1. Primera etapa

Los bioensayos en esta etapa se realizaron con los tratamientos elaborados con aislados microbianos. En el Cuadro 1 se muestran cada uno de los tratamientos.

Elaboración de los tratamientos para la primera etapa.

Cuadro 1. Tratamientos empleados en el bioensayo in vitro con las formulaciones a base de aislados microbianos.

| TRATAMIENTOS | DOSIS (%) |
|---|-----------|
| T ₁ <i>Paecilomyces A</i> | 12.5 |
| T ₂ <i>Paecilomyces B</i> | 12.5 |
| T ₃ <i>Paecilomyces+Beauveria bassiana</i> | 12.5 |
| T ₄ <i>Paecilomyces spp y P. lilacinus</i> | 12.5 |
| T ₅ <i>Bacillus J</i> | 12.5 |
| T ₆ <i>Bacillus M</i> | 12.5 |
| T ₇ <i>Bacillus thuringiensis</i> | 12.5 |
| T ₈ <i>Bacillus 23</i> | 12.5 |
| T ₉ <i>Bacillus 33</i> | 12.5 |
| T ₁₀ Testigo Absoluto | - |

Una vez colectado las muestras de suelo se hicieron pruebas para conocer correctamente la metodología de extracción de nematodos mediante "el embudo de Baerman" para familiarizarse más afondo con el comportamiento y la identificación de los nematodos. Todo esto se realizó dentro del laboratorio de la Empresa Biorganix Mexicana S.A de C.V esto con la importante finalidad de evitar al mínimo las fallas durante las pruebas posteriores.

3.4.2. Segunda etapa

Elaboración de los tratamientos para la segunda etapa

En esta parte del experimento se utilizaron tratamientos elaborados con formulaciones de tipo botánico, en el Cuadro 2 se muestran cada uno de los tratamientos que en esta etapa se realizaron.

Cuadro 2. Tratamientos empleados en el bioensayo in vitro con las formulaciones a base de extractos botánicos.

| TRATAMIENTOS | DOSIS (%) |
|---------------------------------------|-----------|
| T ₁ <i>Extracto AC</i> | 12.5 |
| T ₂ <i>Extracto B L-15</i> | 12.5 |
| T ₃ <i>Extracto PN</i> | 12.5 |
| T ₄ <i>Extracto Ac</i> | 12.5 |
| T ₅ <i>Extracto GB</i> | 12.5 |
| T ₆ <i>Extracto AZ</i> | 12.5 |
| T ₇ <i>Extracto HG</i> | 12.5 |
| T ₈ <i>Extracto DG</i> | 12.5 |
| T ₉ <i>Extracto N B-15</i> | 12.5 |
| T ₁₀ Testigo Absoluto | - |

Los bioensayos se llevaron a cabo en laboratorio de la empresa Biorganix Mexicana S.A. de C.V., en condiciones controladas (28±2°C, 65±5%HR, 12 hs fotofase) (figura 1 y 2).



Figura 1. Prueba *in vitro*, montada en condiciones controladas.



Figura 2. Monitor de control para las condiciones establecidas en las pruebas *in vitro*.

3.5. Diseño y unidad experimental

En todos los tratamientos evaluados se utilizó un diseño experimental de bloques completamente al azar con tres repeticiones en la primera etapa se evaluaron nueve tratamientos y un testigo absoluto que se dividió en dos bioensayos, los cuales conto con cinco tratamientos y tres repeticiones para cada prueba. La segunda etapa del bioensayo se evaluó nueve tratamientos y un testigo absoluto distribuidos al azar con tres repeticiones. La unidad experimental de este trabajo consistió en un embudo de Baerman con 100 g de suelo infestado por nematodos.

3.6. Extracción de nematodos de forma filiforme por métodos de embudo de Baerman

De acuerdo a Thorne (1961), los pasos del procedimiento son:

- a. Las muestras de suelo se mezclaron perfectamente hasta obtener un suelo homogéneo, libre de piedras y pedazos grandes de material vegetal (figura 3).



Figura 3. Suelo perfectamente mezclado listo para montaje de pruebas.

- b. Con los embudos se realizó una completa distribución de los tratamientos en el porta embudos y se colocó una manguera con una pinza al final de la manguera para retención de agua más nematodos, por encima del embudo se colocó una maya de plástico (tela mosquitera) y sobre la maya de plástico servilletas y una vez homogenizado el suelo, se pesó y se colocaron sobre las servilletas de papel en cada embudo 100 g de suelo.
- c. Con la finalidad de conocer la población inicial de nematodos a cada unidad experimental se aplicaron 200 ml de agua purificada, después de 24 horas se procedió a obtener una muestra (3 ml) de agua más nematodos que se pasó bajo el microscopio estereoscópico y se realizó el conteo de la población inicial, y en base a claves taxonómicas se

logró la identificación de los géneros *Meloidogyne incognita* y *Dorylaimus* spp. en juveniles de segundo estadio de machos y hembras, machos y hembras adultos.

- d. Conocida la población inicial se realizó la aplicación de los tratamientos teniendo un volumen de 200 ml de agua para cada embudo, a esta cantidad le restamos el volumen de la dosis (12.5 %=25 ml) y así aforar a al volumen antes mencionado (200 ml), se aplicaron los tratamientos directamente a cada unidad experimental y al mismo tiempo purgando la manguera para evitar presencia de aire que pueda afectar los bioensayos.
- e. Pasadas 48 horas después de la aplicación de los tratamientos, se tomó una muestra (3 ml) de agua más nematodos de la parte final de la manguera de cada unidad experimental, esta muestra fue pasada bajo microscopio estereoscopio para realizar el conteo de población final. Y finalmente se analizaron los resultados.

3.6.1. Identificación taxonómica de nematodos fitopatógenos

La identificación taxonómica a nivel género de los nematodos en cada una de las muestras respectivas se realizó de acuerdo a los caracteres que para este fin establecen Christie (1982) y Cepeda (1996); estos son la forma, tamaño, y apariencia del estilete, nódulos, región cefálica, ovario, vulva, cola, anillos en cutícula, cabeza, istmo, bulbo basal, bulbo medio, forma de reposo etc.

3.7. Distribución de los tratamientos

Para el presente ensayo se manejo un diseño experimental de bloques al azar, la aleatorización de los Tratamientos empleados en el bioensayo in vitro con las formulaciones a base de extractos botánicos y aislados microbianos son mostrados en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Distribución de los tratamientos.

| Bloques | Tratamientos al azar | | | | | | | | | |
|---------|----------------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| I | T ₆ | T ₉ | T ₁₀ | T ₂ | T ₃ | T ₅ | T ₄ | T ₇ | T ₈ | T ₁ |
| II | T ₁ | T ₃ | T ₂ | T ₅ | T ₆ | T ₄ | T ₉ | T ₈ | T ₇ | T ₁₀ |
| III | T ₆ | T ₁ | T ₅ | T ₄ | T ₁₀ | T ₇ | T ₉ | T ₂ | T ₈ | T ₃ |

3.8. Análisis de datos

De los datos de índice de población inicial y población final se les aplico el análisis de varianza y la prueba de comparación de Tukey con un $\alpha=0.05$ con el programa de análisis estadístico XLSTAT.

3.8.1. Variables evaluadas

- **Población Inicial:** se contaron los todos los nematodos después de 24 horas, antes de la aplicación de los tratamientos.
- **Población Final:** se contaron el número de nematodos que lograron extraer pasado 48 horas después de la aplicación de los tratamientos.
- **Porcentaje de mortalidad:** con los bloques se promedió para obtener un valor más homogéneo.

Las variables que se ajustaron a una distribución normal, fueron sometidas a un análisis de varianza para determinar si al menos un tratamiento fue diferente de los demás (ANOVA, $\alpha = 0.05$). Posteriormente los datos se sometieron a una prueba de comparación múltiple de medias para determinar diferencias significativas entre ellas utilizando la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$), con el paquete estadístico statistical analysis system (SAS).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se presentan por separado para cada modalidad de bioensayo (aislados microbianos y extractos botánicos).

4.1. Efecto en condiciones de laboratorio de control con aislados microbianos sobre *Meloidogyne* spp.

Los resultados obtenidos en la modalidad del bioensayo con aislados microbianos muestran que la población inicial tiene un comportamiento homogéneo para cada tratamiento demostrándose estadísticamente que no existen diferencias estadísticas entre ellos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Poblaciones Inicial promedio y diferencia estadística de nematodos filiformes para el ensayo con aislados microbianos.

| Tratamiento | Población Inicial Promedio | Grupo Estadístico (Tukey $\alpha=0.05$) |
|-----------------|----------------------------|--|
| T ₁₀ | 287.33 | A* |
| T ₂ | 285.67 | A |
| T ₉ | 283.33 | A |
| T ₅ | 281.00 | A |
| T ₃ | 275.67 | A |
| T ₁ | 274.67 | A |
| T ₄ | 273.33 | A |
| T ₆ | 273.00 | A |
| T ₈ | 272.67 | A |
| T ₇ | 272.33 | A |

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Para el caso de la población final los aislados de *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus 23*, *Paecilomyces + Beauveria bassiana*, *Paecilomyces A* y *Bacillus M*, fueron los tratamientos que estadísticamente compartieron el mismo grupo, siendo estos los mejores (Cuadro 5).

Cuadro 5. Poblaciones final promedio y diferencia estadística de nematodos filiformes para el ensayo con aislados microbianos.

| Tratamiento | Población Final Promedio | Grupo Estadístico (Tukey $\alpha=0.05$) |
|-----------------|--------------------------|--|
| T ₁₀ | 272.33 | A* |
| T ₄ | 67.67 | B |
| T ₂ | 53.67 | BC |
| T ₅ | 28.33 | C |
| T ₉ | 23.33 | CD |
| T ₆ | 20.00 | D |
| T ₁ | 17.33 | D |
| T ₃ | 9.67 | D |
| T ₈ | 7.67 | D |
| T ₇ | 5.33 | D |

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

En lo que refiere a eficacia de control de *Meloidogyne* spp después de la aplicación de los tratamientos con microorganismos los aislados con mejor porcentaje de control fueron; El aislado *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus 23*, *Paecilomyces + Beauveria bassiana*, *Paecilomyces A* y *Bacillus M*, con porcentajes de 98.40, 97.54, 96.81, 93.98 y 93.00, respectivamente (Cuadro 6).

Cuadro 6. Porcentaje de mortalidad corregida de cada tratamiento para el ensayo con aislados microbianos.

| Tratamiento | Población Final Promedio | Mortalidad (%) |
|-----------------|--------------------------|----------------|
| T ₇ | 5.33 | 98.40 |
| T ₈ | 7.67 | 97.54 |
| T ₃ | 9.67 | 96.81 |
| T ₁ | 17.33 | 93.98 |
| T ₆ | 20.00 | 93.00 |
| T ₉ | 23.33 | 91.77 |
| T ₅ | 28.33 | 89.93 |
| T ₂ | 53.67 | 80.59 |
| T ₄ | 67.67 | 75.43 |
| T ₁₀ | 272.33 | 0.00 |

4.2. Efecto en condiciones de laboratorio de control con extractos botánicos sobre *Meloidogyne* spp.

Los resultados obtenidos en la modalidad del bioensayo con extractos botánicos muestran que la población inicial tiene un comportamiento homogéneo para cada tratamiento demostrándose estadísticamente que no existen diferencias significativas entre ellos (Cuadro 7).

Cuadro 7. Poblaciones inicial promedio y diferencia estadística de nematodos filiformes para el ensayo con extractos botánicos.

| Tratamiento | Población Inicial Promedio | Grupo Estadístico (Tukey $\alpha=0.05$) |
|-----------------|----------------------------|--|
| T ₁₀ | 364.00 | A* |
| T ₃ | 361.00 | A |
| T ₈ | 361.00 | A |
| T ₆ | 356.33 | A |
| T ₄ | 350.67 | A |
| T ₉ | 346.00 | A |
| T ₅ | 339.33 | A |
| T ₁ | 338.67 | A |
| T ₇ | 334.00 | A |
| T ₂ | 284.33 | A |

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Para el caso de la población final los aislados de *Extracto GB*, *Extracto N B-15*, *Extracto AC*, *Extracto Ac* y *Extracto PN*, fueron los tratamientos que estadísticamente compartieron el mismo grupo, siendo estos los mejores (Cuadro 8).

Cuadro 8. Poblaciones final promedio y diferencia estadística de nematodos filiformes para el ensayo con extractos botánicos.

| Tratamiento | Población Final Promedio | Grupo Estadístico (Tukey $\alpha=0.05$) |
|-----------------|--------------------------|--|
| T ₁₀ | 325.33 | A |
| T ₈ | 145.33 | B |
| T ₇ | 140.00 | B |
| T ₂ | 110.00 | BC |
| T ₆ | 91.33 | C |
| T ₃ | 18.67 | D |
| T ₄ | 17.67 | D |
| T ₁ | 17.33 | D |
| T ₉ | 11.67 | D |
| T ₅ | 9.00 | D |

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

En lo que refiere a eficacia de control de *Meloidogyne* spp después de la aplicación de los tratamientos con extractos botánicos que presentaron el mejor porcentaje de control fueron; *Extracto GB*, *Extracto N B-15*, *Extracto AC*, *Extracto Ac* y *Extracto PN*, con porcentajes de 97.53, 96.71, 94.97, 94.86 y 94.55, respectivamente (Cuadro 9).

Cuadro 9. Por ciento de mortalidad corregida de cada tratamiento para el ensayo con extractos botánicos.

| Tratamiento | Población Final Promedio | Mortalidad (%) |
|-----------------|--------------------------|----------------|
| T ₅ | 9.00 | 97.53 |
| T ₉ | 11.67 | 96.71 |
| T ₁ | 17.33 | 94.97 |
| T ₄ | 17.67 | 94.86 |
| T ₃ | 18.67 | 94.55 |
| T ₆ | 91.33 | 72.15 |
| T ₂ | 110.00 | 66.39 |
| T ₇ | 140.00 | 57.14 |
| T ₈ | 145.33 | 55.50 |
| T ₁₀ | 325.33 | 0.00 |

5. CONCLUSIONES

Aislados microbianos

Bacillus thuringiensis a una dosis de 12.5%, mostro la más alta efectividad en el control de *Meloidogyne* spp., logrando obtener el mejor resultado en cuanto a la modalidad de los bioensayos con aislados microbianos dando como resultado un 98.05% de efectividad.

Bacillus 33 aplicando a una dosis de 12.5 % de 200 mL mostro un 97.17% de eficacia nematicida.

Paecilomyces + *Beauveria bassiana* reportó un 96.48% de eficacia en el control del nematodo en estudio *Meloidogyne* spp.

Formulaciones botánicas

Extracto GB en los bioensayos realizados en el laboratorio demostraron tener un contundente efecto de control bien marcado sobre *Meloidogyne* spp, teniendo el mayor porcentaje de control con un 97.35% con una dosis del 12.5%.

Extracto NB-15 a una concentración de 12.5% logro tener una inhibición al desarrollo de *Meloidogyne* spp. logrando obtener el segundo mejor resultado en cuanto al grupo de formulaciones botánicas con un 96.63%.

Extracto AC y *Extracto Ac* manifestaron un efecto significativo en el control de *Meloidogyne* spp., logrando tener un nivel de control similar en cuanto a porcentaje quedando de la siguiente manera: 94.96% y 94.89% respectivamente.

6. ANEXOS

Cuadro 10. Población inicial de nematodos filiformes para la prueba con aislados microbianos.

| Tratamientos | Bloques | | | Promedio |
|-----------------|---------|-----|-----|----------|
| | I | II | III | |
| T ₁ | 261 | 280 | 283 | 274.7 |
| T ₂ | 283 | 279 | 295 | 285.7 |
| T ₃ | 275 | 269 | 283 | 275.7 |
| T ₄ | 258 | 297 | 265 | 273.3 |
| T ₅ | 299 | 266 | 278 | 281.0 |
| T ₆ | 290 | 258 | 271 | 273.0 |
| T ₇ | 256 | 291 | 270 | 272.3 |
| T ₈ | 284 | 255 | 279 | 272.7 |
| T ₉ | 272 | 290 | 288 | 283.3 |
| T ₁₀ | 287 | 284 | 291 | 287.3 |

Cuadro 11. Población final de nematodos filiformes para la prueba con aislados microbianos.

| Tratamientos | Bloques | | | Promedio |
|-----------------|---------|-----|-----|----------|
| | I | II | III | |
| T ₁ | 16 | 21 | 15 | 17.3 |
| T ₂ | 57 | 49 | 55 | 53.7 |
| T ₃ | 9 | 11 | 9 | 9.7 |
| T ₄ | 79 | 58 | 66 | 67.7 |
| T ₅ | 29 | 33 | 23 | 28.3 |
| T ₆ | 19 | 22 | 19 | 20.0 |
| T ₇ | 4 | 7 | 5 | 5.3 |
| T ₈ | 8 | 8 | 7 | 7.7 |
| T ₉ | 23 | 20 | 27 | 23.3 |
| T ₁₀ | 296 | 278 | 243 | 272.3 |

Cuadro 12. Población inicial de nematodos filiformes para la prueba con extractos botánicos.

| Tratamientos | Bloques | | | Promedio |
|-----------------|---------|-----|-----|----------|
| | I | II | III | |
| T ₁ | 316 | 318 | 382 | 338.7 |
| T ₂ | 386 | 362 | 105 | 284.3 |
| T ₃ | 319 | 384 | 380 | 361.0 |
| T ₄ | 349 | 339 | 364 | 350.7 |
| T ₅ | 332 | 336 | 350 | 339.3 |
| T ₆ | 339 | 370 | 360 | 356.3 |
| T ₇ | 320 | 337 | 345 | 334.0 |
| T ₈ | 387 | 309 | 387 | 361.0 |
| T ₉ | 317 | 358 | 363 | 346.0 |
| T ₁₀ | 309 | 392 | 391 | 364.0 |

Cuadro 13. Población final de nematodos filiformes para la prueba con extractos botánicos.

| Tratamientos | Bloques | | | Promedio |
|-----------------|---------|-----|-----|----------|
| | I | II | III | |
| T ₁ | 14 | 17 | 21 | 17.3 |
| T ₂ | 121 | 98 | 111 | 110.0 |
| T ₃ | 16 | 21 | 19 | 18.7 |
| T ₄ | 7 | 26 | 20 | 17.7 |
| T ₅ | 9 | 11 | 7 | 9.0 |
| T ₆ | 81 | 100 | 93 | 91.3 |
| T ₇ | 149 | 133 | 138 | 140.0 |
| T ₈ | 126 | 141 | 169 | 145.3 |
| T ₉ | 12 | 10 | 13 | 11.7 |
| T ₁₀ | 301 | 364 | 311 | 325.3 |

Cuadro 14. ANOVA para población inicial de nematos filiformes tratados con aislados microbianos

| Fuente | DF | Suma de cuadrados | Cuadrado de la media | F-Valor | Pr >F |
|----------------|----|-------------------|----------------------|---------|--------|
| Modelo | 9 | 921.367 | 102.374 | 0.54 | 0.8274 |
| Error | 20 | 3783.333 | 189.167 | | |
| Total correcto | 29 | 4704.700 | | | |

Coef Var 4.949186

Cuadro 15. ANOVA para población final de nematos filiformes tratados con aislados microbianos

| Fuente | DF | Suma de cuadrados | Cuadrado de la media | F-Valor | Pr >F |
|----------------|----|-------------------|----------------------|---------|--------|
| Modelo | 9 | 174949.467 | 19438.830 | 213.38 | <.0001 |
| Error | 20 | 1822.000 | 91.100 | | |
| Total correcto | 29 | 176771.467 | | | |

Coef Var 18.88779

Cuadro 16. ANOVA para población inicial de nematos filiformes tratados con extractos botánicos

| Fuente | DF | Suma de cuadrados | Cuadrado de la media | F-Valor | Pr >F |
|----------------|----|-------------------|----------------------|---------|--------|
| Modelo | 9 | 14660.133 | 1628.904 | 0.5 | 0.8574 |
| Error | 20 | 65191.330 | 3259.567 | | |
| Total correcto | 29 | 79851.467 | | | |

Coef Var 16.61924

Cuadro 17. ANOVA para población final de nematos filiformes tratados con extractos botánicos

| Fuente | DF | Suma de cuadrados | Cuadrado de la media | F-Valor | Pr >F |
|----------------|----|-------------------|----------------------|---------|--------|
| Modelo | 9 | 268874.300 | 29874.922 | 146.85 | <.0001 |
| Error | 20 | 4068.667 | 203.433 | | |
| Total correcto | 29 | 272942.967 | | | |

Coef Var 16.09215

7. LITERATURA CITADA

- Abad P., Favery, B., Rosso M. y Castagnone-Sereno P. 2003. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular Plant Pathology* 4 (4), 217–224.
- Agrios, G. N. 1988. *Plant pathology*. 3 ed. Academic press. New York, USA. P. 703-746.
- Akbar, W.; Lord, J. C.; Nechols, J. R (Howart, R.M. 2004). Diatomaceous earth increases the efficacy of *Beauveria bassiana* against *Tribolium castaneum* larvae and increases conidia attachment. *Journal of Economic Entomology* 97: 273-280.
- Balan, J., L. Krizkova, P. Nemeč and V. Vollek. 1974. Production of nematode attracting and nematocidal substances by predaceous fungi. *Folia Microbiol.* 19: 512-519. Czechoslovakia.
- Barbur M. G., Cunningham G., Oechel. W. O. and Bamberg. 1977. Growth and Development, form and Function. Ln: Hunzker, J. H. and D.R Difoie, (Eds) *Creosote bush: Biology and chemistry of Larrea in new World desert*. Dowden, Hutcginson and Ross Pp 48-79.
- Bauer, M. L. 1984. *Fitopatología*. Ed. Futura. Mexico. 337 p.
- Beltran G. F. 2002. Biofumigación con solarización y extracto de resina de *Larrea tridentata*. Coville para el control de nematodos fitoparásitos en el cultivo de chile. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. p 47.
- Bennett, E. L. and J. Bornner., 1953. Isolation of plant Growth* In*ibitors from T*amosma Montana. *Am. J. Bot* 40: 29-33.
- Brinker, F. 1993. *Larrea tridentata* (D.C). Coville (Chaparral o creosote bush) *British Journal of Phytotherapy*. 3(1): 10-31.
- Brodie, B. B. 1984. Nematode parasites of potato, PP. 167-212 In: Nickle, W. R. (Ed). *Plant and insect nematodes*. Marcel Dekker. New york, USA.
- Carrillo-Fasio, J.A., García-Estrada, R.S., Allende-Molar, R., Márquez-Zequera, I. y Cruz-Ortega, J.E. 2000. Identificación y distribución de especies del nematodo nodulador *Meloidogyne* spp en hortalizas, en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 18(2), 115-119.
- Cepeda, S. M. 1996. *Nematología Agrícola*. Ed. Trillas 1° Edición. México. 300-312 p.

- Cepeda, S.M. 1995 Prácticas de Nematología Agrícola. Ed. Trillas. 1° Edición. México, D.F. 21. p.
- Coyle, J. and N. C. Roberts. 1975 A field guide to the common and interesting plants of Baja California. Natural history Pub.co. La Jolla, California. 55 (1).
- Coosemans, J. 1993. Possibilities for the biological control of nematodes, and their distribution in the soil of highland banana and plantain as a base for sampling. In gold.,CS; Gemmill, B. eds. Biological and integrated control of highland banana and plantain pest and diseases. Proceedings of a research coordination meeting. Cotonou, Benin, 12-14 November, 1991.p. 240-251.
- Davidson, T. R. and J. L. Townshend. 1967. Some weed hosts of the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Nematologica 13 (1): 452-458. Netherlands.
- Downum K.R., Dole J. y Rodriguez J. R. 1988. Nordydroguaiaretic acid: inter- and intrapopulational variation in the Sonora desert Creosote bush (*Larrea tridentata*, zygophyllaceae) Biochemistry Sistemantic and Ecology 16:551-555.
- Dulmage, H. T. and Aizawa, K. 1982. Distribution of *Bacillus thuringiensis* in nature. In: Kurstak, E. (Ed.) Microbial and viral pesticides. Marcel dekker, Inc. New York. Pp. 209-238.
- Dulton, R. A. and C. J. Nusbaum. 1961. The effect of soil temperature on the survival of the root-knot nematodes *Meloidogyne* 6 (1): 280-289. Netherlands.
- Eisenback, J. D. H. Hirschmann., J. N. Sasser y A. C. Triantaphyllou. 1983. Guía para la identificación de las cuatro especies más comunes del nematodo agallador *Meloidogyne* especies. Con una clave pictórica. Traducida por C. Sosa-Moss. Proyecto internacional de *Meloidogyne*. Depto. de Fitopatología de la Universidad del Estado de Carolina del Norte, USA. p 48.
- Emmert, E.A.B y Handelsman, J. 1999. Biocontrol of plant disease: a (Gram +) positive perspective. FEMS Microbiol. Lett. 171, 1-9.
- Franklin M. T. 1962. Preparation of posterior cuticular patterns of *Meloidogyne* spp. For identification. Nematologia 7 (2): 336-337. Netherlands.

- Fundación para la Investigación Agrícola. Enfermedades causadas por nematodos.(FIAV).DANAC-Venezuela(enlínea).
<http://www.danac.org.ve/indice/enfermedades/php?letra=X&listado=t&ps=9>
- Griffin, G. D. 1979. Importance of soil temperature on the pathogenicity of *Meloidogyne hapla* on potato. *Phytopathology* 69 (8): 916. (Abstr.). USA.
- Griffin, G. D., and E. C. Jorgenson. 1969. Effect of soil temperature on the pathogenicity and reproduction of *Meloidogyne hapla* on Russet Burbank potato. *Phytopathology* 59 (1): 11 (Abstr.). USA.
- Guiran, G., and M. Ritter. 1979. Life cycle of *Meloidogyne* species and factors influencing their development, PP. 172- 191. In: Lamberti, F., and C. Taylor (Eds). *Root-knot Nematodes Meloidogyne* species; systematics, biology and control. Academic Pres. New York, USA.
- Hartman, K.M. y Sasser, J.N. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology. pp. 69-77. In: K. R. C. Baker, C. Carter and J.N. Sasser (eds.). *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Volume II. Methodology. North Carolina State University Graphics. Raleigh, NC, USA. 223.
- Hirschmann, H. 1985. The genus *Meloidogyne* and morphological characters differentiating its species, pp. 79-93. In: Sasser, J. N. and C.C. Carter (Eds). *An advanced treatise on Meloidogyne*. VI. I. Biology and control. International *Meloidogyne* project. Department Plant Pathology. North Carolina State Univ. Graphics, USA.
- Huerta, de la P. A. 1986. Acción nematocida de la resina de gobernadora *Larrea tridentata*. Coville en el Guayule *Parthenium argentatum*. Gray bajo cultivo. Tesis de Licenciatura. Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro. 94pp.
- Jansson, H. B. 1985. The biology of the nematophagous fungi *Drechmeria conoospora*. In: Marbam M., N., e I. . Thomason (Eds.). *Fitonematología Avanzada*. CP. Mexico. P. 177-194.
- Jansson, H. B., and Nordbring-Herts. 1984. Involvement of sialic acids in nematode chemotaxis and infection by an endoparasitic fungus. *J. Gen. Microbiol.* 130: 39-44. United States of América.
- Jatala, P. 1985. Biological control of nematodes. In:Sasser, J. N., and C. C. Carter (Eds.). *An advanced treatise on Meloidogyne* spp. NC. St. Univ. Graphics. Raleigh, U. S. A. p. 303-308.

- Jimenes, G. y R. Lopez. 1987. Fluctuación estacional de la distribución espacial de *Meloidogyne incognita* y *Rotylenchulus vermiformis* en papaya (*Carica papaya* L.) Turrialba 37 (2): 165-170. Costa Rica.
- Khan, A; Williams, KL; Nevalainen, HK. 2006. Infection of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. *Bio Control* 51: 659-678).
- Kurstak, E. 1982. Microbial and viral pesticides. Marcel Dekker, Inc. New York pp. I-III.
- Lopez, P. 2004. Control biológico de nematodos parásitos de plantas. *In* control de plagas agrícola. Turrialba. Costa Rica. *Catie*. P. 189-191 (Serie tecnica manual tecnico N° 53).
- Mai, W. F., and G. S., Abawi. 1987. Interactions among Root knot nematodes and *Fusarium* wilt fungi on host plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25:317-338. USA.
- Mai, W. F., B. B. Brodie., M. B. Harrison, and P. Jatala. 1986. Nematodes, pp. 93-101. In; Hooker, W. J. (Ed.). *Compendium of potato diseases*. 3 ed., Ed. American Psychopathological Society. Et. Paul. Minnesota. USA.
- Malculm, C. Shurtleff and Charles W. Averre III. 2000. Diagnosing plant diseases caused by nematodes. APS Press. St. Paul. MN. 187 pp.
- Mankau, R. 1980a. Biocontrol. Fungi as nematode control agents. *J. Nematol.* 12 (4): 244-252. United States ok America.
- Mankau, R. 1980b. Biological control of nematode pests by natural enemies. *Ann. Rev. Phytopathol.* 18: 415-440. USA.
- Mankau, R., and M. V. Mckenry. 1976. Spatial distribution of nematophagous fungi associated with *Meloidogyne incognita* on peach. *J. Nematol.* 8: 249-295. United States of America.
- Mankau, R., and X. Wu. 1985. Effects of the nematode traping fungus *Monacrosporium* on *Meloidogyne incognita* populations in field soil. *Rev. Nematol.* 8: 147-154. France.
- Meyer, S.L.F. 2003. United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service research programs on microbes for management of plant-parasitic nematodes. *Pest Manag Sci.* vol. 59, 665-670.
- Montes – Belmont, R. y Flores, M.H.E 2000. Tratamiento de semillas de sorgo con aceites esenciales para el combate de *Fusarium*

moniliforme. XXVI Congreso Nacional de la sociedad Mexicana de Fitopatología. Puerto Vallarta Jalisco. P 6.

- Morgan-Jones, G. A. K. Culbreath and R. Rodriguez-Kabana. 1984. Notes of Hyphomycetes: 49. *Xenokylindria obovata* and *X. prolifera*, new species isolated from diseased eggs of the nematode *Meloidogyne arenaria*, Mycotaxon 20:599-606. United States of America.
- Morgan-Jones, G., J. F. White and R. Rodriguez-Kábana. 1984a. Phytoneematode Pathology: Ultraestructural studies. II. Parasitism of *Meloidogyne arenaria* eggs and larvae by *Paecilomyces lilacinus*. Nematropica 14 (1): 57-71. United States of Ameica.
- Pell, M., J. I. 1970. Evaluación de los nematicidas Temik (Aldicarb) y Furandán para el control del nematodo *Meloidogyne incognita* y la comprobación de estos sobre sus efectos en el aumento de la producción en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en la región de Navidad, Nuevo León. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 24 p.
- Rhoades, D.F 1977. Integrated antihervivore, antidessiccan and ultraviolet screening properties of creosote bush resin. Biochem. Sist. Ecol. 5:281-290.
- Saikawa, M. 1985. Ultraestructural features of the nonconstring-ring trap in *Dactylella leptospora*. Trans. Mycol. Soc. Jpn. 26:209-214. Japan.
- Saikawa, M. and C. Morikawa. 1985a. Electron microscopy on a nematode-trapping fungus, *Acaulopage pectospora*. Can. J. Bot. 63:1386-1390. Canada.
- Sayre, R. M., and M. P. Starr. 1985. *Pasturia penetrans* new species, new combination revived name, a micelial and endospore-forming bacterium parasitic in plant- parasitic nematodes. Proc. Helminthol. Soc. Whas. 52: 149-165. United States of America.
- SEMARNAT, D.F. (Secretaria del Medio Ambiente Y Recursos Naturales). 2006.
- Siddiqui, Z.A y Mahmood, I. 1999. Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodos: a review. Bioresource Techbol, vol. 69, 167-179.
- Sikora, RA. 1992. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for biotical control of plant parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology 30: 245-270.

- Stirling, G., J. Nicol and F. Reay. 2002. Advisor services for nematode pests. Operational Guidelines. Rural Industries Research Development Corporation. Protection Pty. Ltd. RIRDC. Publication N° 99/41.p.p1-103.
- Taylor, A. L. y J. N. Sasser. 1983. Biología, identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz (especies de *Meloidogyne*). Traducción: Centro Internacional de la Papa (CIP). Proyecto internacional de *Meloidogyne*. Universidad del Estado de Carolina del Norte. Raleigh, N. C., USA p111.
- Taylor, A. L., and J:N. Sasser. 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes *Meloidogyne*. International *Meloidogyne* Project. Departemente of Plant Pathology. North Carolina State University. United States Agency for International Development. 111p.
- Taylor, AL. 1971. Introducción a la nematología vegetal aplicada. Guía de la FAO para el estudio y el combate de los nematodos parásitos de plantas. Roma, IT, FAO. 131 p.
- Thoner, G. N. 1961. Physiological Aspects of grain yield in cereals. En. Growth of cereals and Grasses. E. F. J. Milthorpe and J. D. Ivin. London. 88-105 pp.
- Tian, B.; Yang, J. y Zhang, K.Q. 2007. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: population, mechanisms of action and future prospect. FEMS Microbiol Ecol. vol. 61, 197-213.
- University of California Davis. UCD [en línea]. 2006 <http://plpnemweb.edu/nemaplex/Taxamnus/G076mnu.htm>. [fecha de consulta 18-18-17].
- Witefort, N.1987. Insects, mites and insecticides in stored grain ecosystems P. 123-168. Ln D. Jayas, N. white, and lighfootstored grain ecosystems. Marceland Dekker, New York, USA.
- Yépez, G. 1972. Los nematods; enemigos de la agricultura. Maracay, Venezuela Universidad Central. 220p.